



UNIVERSIDADE
E COMUNIDADE
EM CONEXÃO



XIII FINOVA

6 a 10 de novembro

Evento	Salão UFRGS 2023: FEIRA DE INOVAÇÃO TECNOLÓGICA DA UFRGS - FINOVA
Ano	2023
Local	Campus Centro - UFRGS
Título	Te digo minha cor e tu me dirás quem sou: a utilização de cromoproteína azul do coral <i>Acropora millepora</i> como gene repórter para a confirmação visual da inserção de partes de DNA
Autor	ISABELLI SEILER DE MEDEIROS MENDES
Orientador	DIEGO BONATTO

TÍTULO DO PROJETO: "Te digo minha cor e tu me dirás quem sou: a utilização de cromoproteína azul do coral *Acropora millepora* como gene repórter para a confirmação visual da inserção de partes de DNA"

Aluna: Isabelli Seiler de Medeiros Mendes.

Orientador: Diego Bonatto.

Área do projeto: Ciências Biológicas.

RESUMO DAS ATIVIDADES DESENVOLVIDAS PELO BOLSISTA

As técnicas de edição gênica são essenciais para que genomas de microrganismos, como leveduras de uso industrial, sejam modificados de forma precisa para diferentes aplicações biotecnológicas. Porém, o desenho de aparatos e sistemas de expressão baseados na técnica de CRISPR-CAS impõe desafios, como tornar eficiente a prospecção de vetores contendo a sequência codificante para um gRNA/trcRNA/crRNA (RNA guia) corretamente inseridas. Visando diminuir práticas de rotina envolvidas na confirmação da concatenação como, cultivo líquido da colônia, extração do DNA plasmidial e PCR de colônia, foi desenhado um sistema repórter que indica quando a sequência codificante para um RNA guia foi inserida no plasmídeo de interesse. Os diferentes RNAs guias são requeridos para as enzimas Cas reconhecerem a parte do genoma a ser clivado e é imprescindível sua presença no vetor para que ocorra a edição gênica. Sendo assim, foi desenhado um gene repórter sintético para expressão em *Escherichia coli* consistindo de um promotor sintético constitutivo, da sequência codificante para a cromoproteína do coral *Acropora millepora* (amilCP), cuja proteína gera uma coloração azul na célula, e uma sequência terminadora sintética para *E. coli*. Este dispositivo de expressão (denominado "amilCP_Bsal") foi flanqueado em suas extremidades 5' e 3' com sítios de reconhecimento para a endonuclease de restrição do tipo IIS *Bsal*. Uma vez realizada a síntese do dispositivo amilCP_Bsal, verificou-se que a expressão do mesmo é cepa de *E. coli* dependente. Por fim, espera-se que este dispositivo possa ser aplicado no desenho e geração de vetores para edição gênica de leveduras, onde a sua presença indicará quando o gRNA foi inserido no vetor de uma forma prática e visual.